Zeitschrift

With kind regards from Verkelin Bayliss

Nicht im Buchhandel.

4.

Abdruck

aus der

Zeitschrift für allgemeine Physiologie.

Herausgegeben von

Dr. Max Verworn,
Professor der Physiologie und Direktor des physiologischen Instituts
an der Universität Göttingen.

Fünfter Band. Erstes Heft. 1905.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Nachdruck verboten.

Die Kohlensäureproduktion von Paramaecium aurelia.

Von J. O. Wakelin Barratt,
British Medical Association Research Student.
(Aus dem physiologischen Institut zu Göttingen.)

Mit 1 Abbildung.

(Der Redaktion zugegangen am 24. Dezember 1904.)

Im Verlauf einer Untersuchung über Chemotaxis mußte die von Paramäcien täglich erzeugte Menge von Kohlendioxyd bestimmt werden. Das gab den Anlaß zu den Versuchen, welche den Gegenstand dieser Mitteilung bilden. Obwohl die ursprüngliche Untersuchung die CO_2-Erzeugung bei Zimmertemperatur betraf, dehnten sich die Beobachtungen doch auf weitere Temperaturen, nämlich 0—30° C, aus. Infolge der durch viele andere Organismen hervorgerufenen CO_2-Produktion war es unmöglich, dieselbe in der Heuinfusion, in welcher die Paramäcien gezüchtet wurden, zu bestimmen. Deshalb mußte die CO_2-Produktion von Paramäcien untersucht werden, wenn sie sich in destilliertem Wasser befanden. Das Gewicht der zum Versuche verwendeten Paramäcien wurde durch Messen ihres Volumens bestimmt [1]; außerdem wurde auch die Zahl der vorhandenen Paramäcien in jedem Versuche bestimmt.

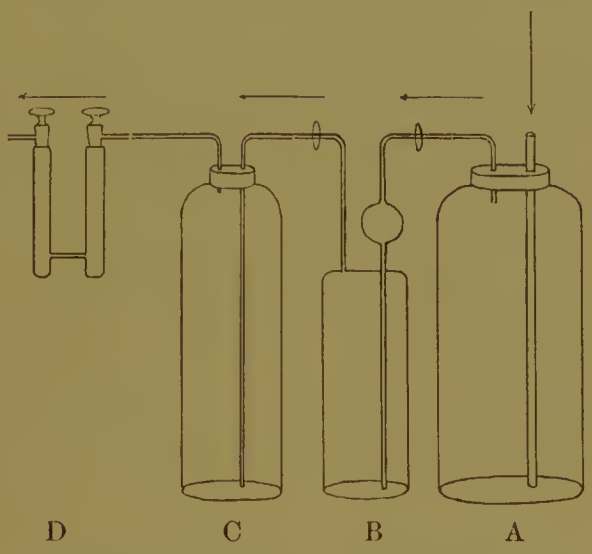
Methode.

Der Apparat, welcher zur Bestimmung der von Paramäcien erzeugten Menge von Kohlendioxyd [2]) verwendet wurde, ist in der Figur

1) Um das Gewicht aus dem Volumen zu berechnen, benutzt man die von Jensen gefundene Bestimmung des spezifischen Gewichtes von Paramäcien, nämlich 1,25. (Die absolute Kraft einer Flimmerzelle, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 54, 1893, p. 537.)

2) Vergl. W. Barratt, On the normal and pathological elimination of carbonic acid and water by the skin. Journ. of Physiol., 1897, Vol. 21, p. 192; Vol. 22, p. 206; Vol. 24, p. 11.

gezeichnet. Die in destilliertem Wasser befindlichen Paramäcien wurden in den Apparat B hineingebracht. Letzterer, welcher aus Glas gemacht ist, besteht aus einer Flasche von 250 ccm Inhalt, die oben mit zwei Hähne tragenden Röhren versehen ist [1]). Sind die Hähne geschlossen, so kann keine Luft aus dem Apparat herauskommen oder in denselben eindringen. Rechts von B befindet sich eine große, mit granuliertem Natronkalk gefüllte Absorptionsflasche A. Links von B steht eine zweite, mit Bimsstein und Schwefelsäure gefüllte Flasche C. Der Bimsstein soll vor dem Gebrauch mit Schwefelsäure angefeuchtet und dann geglüht werden. D ist ein doppelter Absorptionsapparat, welcher aus zwei Natronkalk resp. Schwefelsäure (und Bimsstein) enthaltenden Glasröhren, die mit einem Querstück verbunden sind, besteht. Jede Röhre ist mit einem Hahn verschlossen, ähnlich wie bei einem Calciumchloridabsorptionsapparat. Der ganze Apparat D wiegt gefüllt ungefähr 40 g. Die verschiedenen Stücke des ganzen Apparates sind mittels Gummischlauches miteinander verbunden.



A Flasche, mit Natronkalk gefüllt. B Flasche, in welcher Kohlendioxyd von Paramäcien produziert wird. C Flasche, welche Schwefelsäure und Bimsstein enthält. D CO_2-Absorptionsapparat.

Um mit diesem Apparate Bestimmungen von Kohlendioxyd zu machen, wurden Paramäcien in das Gefäß B, welches sofort durch die Hähne verschlossen wurde, hineingebracht. Nach Verlauf von ungefähr 24 Stunden wurden die Hähne geöffnet und ein Luftstrom durch den Apparat in der Richtung der Pfeile hindurchgeschickt [2]).

1) Da gewöhnlich 50 ccm Paramäcien enthaltende Flüssigkeit in die Flasche B hineingebracht wurden, so kann man aus der Löslichkeit von Kohlendioxyd in Wasser schließen, daß in dem nicht gefüllten Raume der Flasche, welche ungefähr 200 ccm faßte, nahezu $^4/_5$ des erzeugten Kohlendioxyds enthalten waren, indem die übrige Menge Kohlendioxyd in der Flüssigkeit gelöst blieb. Unten geben wir Kontrollversuche, die den erreichbaren Genauigkeitsgrad zeigen.

2) Die Menge der verwendeten Luft betrug gewöhnlich 1000 ccm. Diese ließ man durch den Apparat 20—25 Minuten lang hindurchgehen.

Die Hähne wurden dann wieder geschlossen, die Flaschen von einander getrennt und der Absorptionsapparat D, dessen Gewicht am Anfang des Versuches bestimmt war, wieder gewogen, indem man einen zweiten Apparat derselben Konstruktion als Gegengewicht benutzte. Die in B enthaltene Flüssigkeit wurde jetzt herausgenommen und sein Volumen auf 100—300 ccm aufgefüllt. Um eine gleiche Verteilung der Paramäcien in der Flüssigkeit zu erzielen, wurde geschüttelt und dann 1 ccm der Flüssigkeit in einer Pipette abgemessen, auf einer in Quadrate eingeteilten Glasplatte unter das Mikroskop gebracht und die vorhandenen Paramäcien gezählt [1]). Die in der übrig bleibenden Menge der Flüssigkeit befindlichen Individuen wurden durch Zentrifugieren konzentriert. Dann wurde ein Hämokrit mit den Paramäcien bis zum Volumen ungefähr eines Kubikmillimeters gefüllt, darauf das Hämokrit seines Inhaltes entleert, die Paramäcien in Wasser verteilt und gezählt. Da man die Gesamtzahl der zum Versuche verwendeten Paramäcien kennt. kann man auch ihr Volumen leicht berechnen. Eine annähernde Bestimmung des Volumens des verwendeten Protoplasmas kann man durch bloßes Zählen gewinnen, jedoch ist infolge von Unregelmäßigkeiten in der Größe der Paramäcien eine mit dem Hämokrit gemachte Bestimmung genauer.

Bei Bestimmungen des von Paramäcien erzeugten Kohlendioxyds muß man für die Abwesenheit anderer Organismen in größeren Mengen, welche die vorhandene Quantität Kohlendioxyd beeinflussen würden, Sorge tragen, insbesondere muß man die Paramäcien von Bakterien und Kolpidien befreien, welch letztere, wie auch freie Bakterien, man durch Zentrifugieren trennen kann, wobei jedoch gewöhnlich eine geringe Menge Bakterien an den Paramäcien haften bleibt. In den meisten Versuchen blieben die Paramäcien nach der Trennung von anderen Organismen 24 Stunden lang in destilliertem Wasser, ehe sie zum Versuche dienten.

Wurden Kontrollversuche in derselben Weise wie die eigentlichen Versuche angestellt, jedoch ohne daß Paramäcien sich im Wasser befanden, so bemerkte man eine Zunahme des Gewichtes des Apparates D, welche von 0,2—0,5 mg variierte. Aus diesen Kontrollversuchen gewinnt man Korrekturen für die eigentlichen Bestimmungen. Brachte man in die Flasche B eine Menge Natrium-

1) Falls einige Paramäcien tot waren, so wurden diese zunächst gezählt. Die lebenden Paramäcien wurden dann durch einen Tropfen Essigsäure, welchen man auf die Platte fallen ließ, getötet und die gesamte Menge gezählt.

bikarbonat, welche genügt, um 3—5 mg Kohlendioxyd zu erzeugen, und auch einen Ueberschuß von Säure, so fand sich, wenn man eine Bestimmung des Kohlendioxyds machte, daß die gefundene Menge CO_2 in 4 Bestimmungen 5—8 Proz. kleiner war als die hineingebrachte Menge, ein Fehler, welcher also nicht beträchtlich ist im Hinblick auf die außerordentlich geringen hier zu messenden Quantitäten.

Experimenteller Teil.

In Tabelle 1 findet sich eine Reihe von Bestimmungen der von Paramäcien unter verschiedenen Versuchsbedingungen (Versuchsdauer, Zahl und Volumen der Tiere) erzeugten Menge Kohlendioxyd. Diese Versuche zeigen, daß eine Substanz von den Paramäcien abgesondert wird, welche von Natronkalk absorbiert wird. Wenn die Luft, die in dem in der Figur gezeichneten Apparate B vorhanden ist und welche am Anfange des Versuches vor dem Zusatz von Paramäcien kohlensäurefrei war, in eine, eine Lösung von Barium- oder Calciumhydroxyd enthaltende Flasche geleitet wird, so erscheint nach einigen Minuten an der Oberfläche der Flüssigkeit ein Häutchen. Daraus kann man schließen, daß Kohlensäure von Paramäcien abgesondert wird [1]).

In Tabelle 1 wird in der 6. Spalte die durch Paramäcien täglich erzeugte Menge Kohlendioxyd angegeben und in der 5. Spalte das Volumen der verwendeten Tiere. Aus diesen Daten ist in der 7. Spalte die bei derselben Geschwindigkeit von 100 mg Paramäcien täglich abgegebene Menge Kohlendioxyd berechnet. Eine Berechnung der von einem einzigen Paramäcium abgegebenen Menge Kohlendioxyd ist ohne Wert, weil die durchschnittliche Größe der in den verschiedenen Versuchen verwendeten Paramäcien beträchtliche Abweichungen darbot, wie auch die in der 5. Spalte in Klammern angeführten Zahlen zeigen, welche die Zahl der Paramäcien angeben, deren Volumen ein Kubikmillimeter beträgt [2]).

1) Jennings (Studies on reactions to stimuli in unicellular organisms, Journ. of Physiol., Vol. 21, 1897, p. 258) kommt zu demselben Schlusse, indem er beobachtete, daß eine Rosollösung, die durch Säuren, und zwar durch Kohlensäure, entfärbt wird, auch von Paramäcien entfärbt wird, wenn letztere sich in einer dicken Gruppe ansammeln (p. 288).

2) Dessen Gewicht 1,25 mg ist, da das spezifische Gewicht der Paramäcien zu 1,25 angenommen ist.

Tabelle 1.
Bestimmung des von Paramaecium aurelia erzeugten CO_2.

No des Versuches	Temp.	Versuchsdauer	Zahl der Paramäcien	Volumen der Paramäcien	Menge von CO_2 in 24 Stunden erzeugt	Menge von CO_2 im Prozentsatz des Protoplasmas
1	4—7°	21 Stdn.	75 000	30 cmm (2500)	1,1 mg	2,9 Proz.
2	13—14°	41 „	43 000	40 „ (1075)	1,5 „	3,0 „
3	14—14,5°	3 Tage	407 000	80 „ (5009)	3,4 „	3,4 „
4	15—15,5°	25 Stdn.	154 000	27,5 „ (5450)	1,2 „	3,5 „
5	15—17°	24 „	151 000	116 „ (1302)	7,7 „	5,3 „
6	20°	23 „	251 000	100 „ (2510)	4,7 „	3,8 „
7	25—27°	23 „	268 000	107 „ (2540)	6,3 „	4,7 „

Die in der 7. Spalte von Tabelle 1 gegebene prozentige Kohlendioxydproduktion zeigt nicht das genaue Verhältnis zur Temperatur, das man erwartet hatte. Die Versuche wurden mit verschiedenen Kulturen von Paramäcien angestellt. Letztere waren von verschiedener Größe und Beweglichkeit und in den Wintermonaten knapp (Versuch 3 und 5), im Sommer (Versuch 1, 4, 6 und 7) zahlreich. Man muß annehmen, daß der funktionelle Zustand der in Tabelle 1 verwendeten Paramäcien einen Einfluß auf die Kohlensäureproduktion ausübte.

Um den Einfluß der Temperatur auf die Kohlendioxydproduktion zu bestimmen, wurde die in Tabelle 2 angegebene Reihe von 4 Versuchen angestellt; zu allen diesen diente dieselbe Kultur von Paramäcien. Die von der Heuinfusion befreiten Tiere wurden in destilliertes Wasser gebracht und aus demselben nach Bedarf herausgenommen. Diese Versuche zeigen deutlich den Einfluß der Temperatur auf die Menge des durch Paramäcien erzeugten Kohlendioxyds, welche bei 27—30° C mehr als 2mal so groß ist als bei 15° C[1]). Daneben zeigt auch diese Tabelle die Verminderung der Größe, welche die Paramäcien von Tag zu Tag während der sechstägigen Dauer der Versuche erlitten, da die Versuche folgendermaßen ausgeführt wurden: Versuch 3 folgte sofort auf Versuch 1; Versuch 4 wurde 24 Stunden nach Schluß von Versuch 3 angefangen; Versuch 2 fing 24 Stunden nach Schluß von Versuch 4 an. Die in der

1) Paramäcien wachsen gut bei Temperaturen zwischen 13° und 30° C. Bei niedrigen Temperaturen ist es schwer, sie zu züchten. In Versuch 1, Tabelle 2 waren am Schlusse des Versuches alle Paramäcien tot; in Versuch 1, Tabelle 1 lebten am Schlusse des Versuches 48 Proz. der Paramäcien.

Tabelle 2.

Bestimmung des von Paramaecium aurelia erzeugten CO_2.

No. des Versuches	Temp.	Versuchsdauer	Zahl der Paramäcien	Volumen der Paramäcien	Menge von CO_2 in 24 Stunden erzeugt	Menge von CO_2 im Prozentsatz des Protoplasmas
1	0°	24 Stdn.	198 000	74,3 cmm (2665)	0,2 mg	—
2	15°	24 „	355 000	65,5 „ (5423)	1,1 „	1,3 Proz.
3	19—21°	24 „	200 000	51,8 „ (3860)	1,2 „	1,9 „
4	27—30°	24 „	350 000	81,5 „ (4290)	2,7 „	2,7 „

5. Spalte in Klammern gegebene Zahl der in einem Kubikmillimeter vorhandenen Paramäcien zeigt eine Zunahme derselben während der Versuchsdauer von 2665 bis 5423 [1]).

Die von Paramäcien abgesonderte Menge Kohlendioxyd ist auffallend hoch, und zwar erreichte sie einmal 5,3 Proz. täglich (Versuch 5, Tabelle 1). In Tabelle 2 ist die prozentige Kohlensäureproduktion geringer als in Tabelle 1. Diese Verschiedenheit scheint daher zu kommen, daß die Paramäcien während der Zeit der in Tabelle 2 angegebenen Versuche und auch zwei Tage lang vorher gehungert hatten. In demselben Sinne wie die Größe der CO_2-Produktion ist die Bewegung der Paramäcien von der Temperatur abhängig, die bei 25—30° C viel lebhafter ist als bei Zimmertemperatur.

Es sind bisher nur wenige Beobachtungen über die Kohlensäureproduktion der Protozoen gemacht worden. Die einzige Untersuchung dieser Art, soweit ich weiß, ist diejenige von Vernon [2]), welcher bei 16° C die täglich von Collozoum inerme (dessen Gewicht ungefähr 2 g beträgt) erzeugte Menge Kohlensäure zu 0,277 Proz. des Körpergewichtes bestimmte.

Es ist von Interesse, die bei gewöhnlicher Temperatur von Paramäcien täglich erzeugte Menge CO_2 mit derjenigen von kaltblütigen Tieren höherer Entwickelung wie auch von warmblütigen Tieren zu vergleichen. Unter ersteren findet man große Verschiedenheiten, weshalb man keinen allgemeinen Vergleich ihrer CO_2-Produktion mit derjenigen warmblütiger Tiere anstellen kann. Bei Insekten hat man im Vergleich mit Säugetieren einen hohen Grad von CO_2-Erzeugung. Z. B. erreicht die tägliche CO_2-Erzeugung von

1) Die Verminderung der Größe der Paramäcien ist zum größten Teile durch Hinschwinden der Tiere bedingt; auch sterben die größeren Tiere schneller als die kleineren.

2) Journ. of Physiol., Vol. 19, p. 18.

Antherea bis zu 2,85 Proz. des Körpergewichtes[1]). Bei der Mehrzahl der untersuchten kaltblütigen Tiere war jedoch die Kohlendioxydproduktion viel geringer. Bei den Amphibien variiert sie mit der Temperatur erheblich, z. B. beim Frosch von 0,029 Proz. bei 0,25° C bis 1,54 Proz. bei 35° C[2]). Unter den Säugetieren zeigt die Maus eine tägliche Kohlendioxyderzeugung, welche diejenige des Paramäciums übersteigt und bei 10,5° C 10,5 Proz. des Körpergewichtes beträgt[3]).

Zusammenfassung.

1) Kohlensäure wird von Paramäcien in wägbaren Mengen abgegeben.

2) Die tägliche Kohlendioxydproduktion variierte in den angeführten Versuchen von 1,3—5,3 Proz. des Gewichtes der verwendeten Paramäcien.

3) Bei einer Versuchsreihe (Tabelle 2), zu welcher dieselbe Kultur von Paramäcien verwendet wurde, wurde mehr als doppelt so viel Kohlendioxyd bei 27—30° C (2,7 Proz.) als bei 15° C (1,3 Proz.) produziert.

4) Bei denjenigen Versuchen, in welchen die Paramäcien gehungert hatten (Tabelle 2), war die Kohlendioxydproduktion bei verschiedenen Temperaturen (1,3—2,7 Proz.) niedriger als in anderen Versuchen (2,9—5,3 Proz., Tabelle 1).

Die vorliegende Untersuchung wurde im physiologischen Institut der Universität Göttingen angestellt. — Besonderen Dank schulde ich Herrn Prof. Verworn für die wertvolle Unterstützung bei dieser Arbeit.

---

1) Regnault et Reiset, Ann. de chim. et phys., Sér. 3, T. 36, Paris 1849.

2) Schulz, Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 14, Bonn 1877, p. 78.

3) Oddi, Arch. ital. de biol., T. 15, Turin 1891, p. 223.

24ColorCard
CameraTrax.com